

Aus der Hautabteilung des Stephan (István)-Spitals in Budapest (Chefarzt: Prof. Dr. E. Rajka), des Impfstoffproduktions- und Forschungsinstituts "Human", Budapest, (Direktor: Dr. G. Veres) und des Städtischen Krankenhauses Budapest/IV Bezirk (Direktor: Dr. G. Darvas), Ungarn.

ALLERGOLOGISCHE UND IMMUNOLOGISCHE  
UNTERSUCHUNGEN  
MIT STAPHYLOKOKKUS-ANATOXIN  
AN EKZEMATÖSEN KRANKEN

II. *Gegenseitiges Verhältnis zwischen dem allergologischen und immunologischen Zustand der kokkogenen Ekzematiker*

Von

S. KOROSSY, M. GÓZONY, R. BACKHAUSZ & GY. DÓBIÁS

Nachdem wir nun ein Bild über den allergologischen und immunologischen Zustand der kokkogenen Ekzematiker und die diesbezüglichen durch Einwirkung der Immunbehandlung bzw. im spontanen Verlauf eingetretenen Veränderungen erhalten haben, wollen wir das gegenseitige Verhältnis zwischen den allergologischen und immunologischen Untersuchungen prüfen.

Das Verhältnis zwischen der mit dem biologischen Schwellenwert ausgelösten *Frühtyp-Hautreaktionen* und dem *Serum-Alfaantitoxinspiegel* studierten wir in 125 Fällen.

Ein Vergleich der Serumalfaantitoxinspiegel und der Ergebnisse der Frühtyp-Hautreaktionen liess keine irgendwelche Parallelität feststellen. Negative Hautproben kommen auch bei hohen Antitoxinwerten vor und umgekehrtweise erscheint eine positive Reaktion durch niedrige Spiegel nicht ausgeschlossen. Der Wert  $\chi^2$  bleibt beträchtlich hinter dem für 5 % Wahrscheinlichkeit berechneten *Grenzwert* (7,815) zurück, die Abweichungen sind somit nicht signifikant; somit lässt sich

zwischen dem Resultat der mit biologischem Schwellenwert ausgelösten Frühtyp-Hautreaktionen und dem Serum-Alfa-antitoxinspiegel kein Zusammenhang nachweisen.

Bei der zweiten Untersuchung zeigten sich die Serum-Alfa-antitoxinspiegel sowohl der Kranken mit positiven, als auch jener mit negativen Frühtyp-Hautreaktionen – unter Ausnahme von 2 Fällen – als hoch bzw. sehr hoch, wodurch unsere letztere Feststellung noch mehr unterstrichen erscheint.

TAFEL 1

*Verhältnis zwischen dem Resultat der, durch den biologischen Schwellenwert ausgelösten, intrakutanen Hautreaktion und dem Serum-Alfaantitoxinspiegel.*

| Antitoxin-<br>Wertgrenze<br>IE/ml | Frühtyp-Hautreaktion |               |               |               |               |                 |              |              |
|-----------------------------------|----------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------------|--------------|--------------|
|                                   | 1. Untersuchung      |               |               |               |               | 2. Untersuchung |              |              |
|                                   | Ge-<br>samt          | Positiv       |               | Negativ       |               | Ge-<br>samt     | Po-<br>sitiv | Ne-<br>gativ |
|                                   |                      | Er-<br>wartet | Ge-<br>funden | Er-<br>wartet | Ge-<br>funden |                 |              |              |
| 0,25 niedrig .....                | 11                   | 6,6           | 4             | 4,4           | 7             | 0               | 0            | 0            |
| 1,0 mittel .....                  | 38                   | 22,8          | 25            | 15,2          | 13            | 2               | 1            | 1            |
| 4,0 hoch .....                    | 58                   | 34,8          | 35            | 23,2          | 23            | 33              | 23           | 10           |
| 16 (-71,5) sehr hoch              | 18                   | 10,8          | 11            | 7,2           | 7             | 90              | 57           | 33           |
| Gesamt .....                      | 125                  |               | 75            |               | 50            | 125             | 81           | 44           |

$$\chi^2 = 2,568$$

In der Folge untersuchten wir, ob sich bei den 75 Individuen mit positiver Frühtyp-Hautreaktionen *Zusammenhänge der individuellen Schwellenwerte und des Serum-Alfaantitoxinspiegels* ergeben. Bei manchen Kranken konnte nämlich die Frühtyp-Hautreaktionen auch in sehr hoher Verdünnung, oberhalb des biologischen Schwellenwertes, d.h. durch sehr kleine Antigenmengen ausgelöst werden, während bei anderen die Reaktion nur mit dem biologischen Schwellenwert oder der nächsthöheren Verdünnung positiv ausfiel. In unserer Tafel sind die ersteren Individuen als solche mit hohem, die letzteren als solche mit niedrigem individuellen Schwellenwert angeführt.

TAFEL 2

*Zusammenhang zwischen dem intrakutanen individuellen Frühtyp-Schwellenwert und dem Serum-Alfaantitoxinspiegel.*

| Antitoxin-<br>Wertgrenze<br>IE/ml | Gesamt | Individueller Schwellenwert |          |          |          |
|-----------------------------------|--------|-----------------------------|----------|----------|----------|
|                                   |        | Hoch                        |          | Niedrig  |          |
|                                   |        | Erwartet                    | Gefunden | Erwartet | Gefunden |
| 0,25 niedrig .....                | 4      | 2,1                         | 2        | 1,9      | 2        |
| 1,0 mittel .....                  | 25     | 13,0                        | 7        | 12,0     | 18       |
| 4,0 hoch .....                    | 35     | 18,2                        | 24       | 16,8     | 11       |
| 16,0 (-71,5) sehr hoch ..         | 11     | 5,7                         | 6        | 5,3      | 5        |
| Gesamt .....                      | 75     |                             | 39       |          | 36       |

$$\chi^2 = 9,649$$

Eine solche Einteilung unseres Krankenmaterials zeigt, dass in Fällen, wo die Frühtyp-Hautprobe auch mit hoher Verdünnung oberhalb des biologischen Schwellenwertes positiv war, sich meist auch stark gesteigerte Antitoxinspiegel zeigen; wohingegen sich eine Positivität der Hautprobe nur bei geringer Verdünnung meldete, war der Antitoxinspiegel häufiger unter 1 E/ml. Die Abweichung der gefundenen Werte von den erwarteten ist signifikant, da der Wert  $\chi^2 = 9,649$ , somit höher als der auf die Wahrscheinlichkeit von 5 % bezogene Grenzwert (7,815) ist.

Der Umstand, dass zwischen der Positivität der durch den biologischen Schwellenwert ausgelösten Frühtyp-Hautreaktion und dem Alfaantitoxinspiegel kein signifikanter Zusammenhang besteht, zugleich sich in Fällen positiver Hautreaktion zwischen Verdünnungsgrad und Alfaantitoxinspiegel ein linearer Zusammenhang geltend macht, bedeutet nur einen scheinbaren Widerspruch, der sich folgenderweise erklären lässt. Infolge Staphylokokkus-Infektion kann, da die Staphylokokkus-Endo- und Exotoxine zahlreiche antigendeterminante Gruppen enthalten, im Organismus die Produktion verschiedener Antikörper einsetzen. Einer von diesen, das Alfaantitoxin entsteht in allen Erwachsenen, darum sind die im Serum-Alfa-

antitoxinspiegel erfassbaren individuellen Unterschiede nur quantitativer Art. Der für die Frühtyp-Hautreaktion verantwortliche Antikörper kommt nicht in allen staphylogenen Infektionen zustande, wahrscheinlich deshalb, weil das seine Bildung auslösende Antigen schwächer als das Alfatoxin ist; derart unterteilen sich die Kranken in solche mit positiver bzw. negativer Hautreaktion. Hingegen kann, wenn der Organismus von massivem und häufigem oder andauerndem Antigenreiz betroffen wird, die Antikörperproduktion einen höheren Spiegel erreichen, wobei sich auch der für die Frühtyp-Reaktion verantwortliche Antikörper in einer, den biologischen Schwellenwert erreichenden Menge bildet und die positive Frühtyp-Hautreaktion zustandebringt; im weiteren wird auch diese Menge übertroffen und die Hautprobe fällt auch mit grosser Verdünnung positiv aus, wobei auch der Zusammenhang mit dem Antitoxinspiegel nachweisbar wird.

Den Zusammenhang zwischen Frühtyp-Hautreaktion und Anti-F-Antikörper untersuchten wir in 115 Fällen.

TAFEL 3  
Zusammenhang zwischen Frühtyp-Hautreaktion und Anti-F-Antikörper.

| Frühtyp-Hautreaktion | Anti-F-Antikörper |             |          |          |          |
|----------------------|-------------------|-------------|----------|----------|----------|
|                      | Gesamt            | Nachweisbar |          | Fehlend  |          |
|                      |                   | Erwartet    | Gefunden | Erwartet | Gefunden |
| Positiv .....        | 68                | 26,6        | 34       | 41,4     | 34       |
| Negativ .....        | 47                | 18,4        | 11       | 28,6     | 36       |
| Gesamt .....         | 115               |             | 45       |          | 70       |

$$\chi^2 = 7,17$$

Die bei homogener Verteilung erwarteten und die gefundenen Werte vergleichend, erhielten wir  $\chi^2$  zu 7,17, d.h. die Abweichung ist signifikant und nicht zufällig (der Grenzwert für einen Freiheitsgrad beträgt 3,841). Auch ist augenfällig, dass die Anzahl der gefundenen Fälle dann grösser als die erwar-

tete ist, wenn beide Reaktionen positiv oder beide negativ ausfallen. Aus diesem Grunde darf behauptet werden, dass die Bildung des für die Frühtyp-Hautreaktion verantwortlichen Antikörpers und jene des Anti-F-Antikörpers auf der Mitwirkung der gleichen Faktoren beruht.

*Zusammenhang zwischen Serum-Alfaantitoxinspiegel und Anti-F-Antikörper.*

Die Analyse der im Falle homogener Verteilung erwarteten und der gefundenen Werte gestattet die Feststellung, dass 1. der Anti-F-Antikörper nicht identisch mit dem Alfaantitoxin, 2. die Abweichung zwischen erwarteten und gefundenen Werten signifikant ( $\chi^2 = 8,599$ ; der Grenzwert beträgt 7,815), also nicht zufällig, 3. bei gesteigertem Alfaantitoxinspiegel des Serums der Anti-F-Antikörper mit grösserer Häufigkeit nachweisbar ist.

TAFEL 4

*Zusammenhang zwischen Serum-Alfaantitoxinspiegel und Anti-F-Antikörper.*

| Antitoxin-<br>Wertgrenze<br>IE/ml | Anti-F-Antikörper |             |          |          |          |
|-----------------------------------|-------------------|-------------|----------|----------|----------|
|                                   | Gesamt            | Nachweisbar |          | Fehlend  |          |
|                                   |                   | Erwartet    | Gefunden | Erwartet | Gefunden |
| 0,25 niedrig .....                | 11                | 4,3         | 3        | 6,7      | 8        |
| 1,0 mittel .....                  | 36                | 14,1        | 8        | 21,9     | 28       |
| 4,0 hoch .....                    | 50                | 19,4        | 23       | 30,6     | 27       |
| 16,0 (-71,5) sehr hoch ..         | 16                | 6,2         | 10       | 9,8      | 6        |
| Gesamt .....                      | 113               |             | 44       |          | 69       |

$$\chi^2 = 8,599$$

Das Verhältnis zwischen dem Anti-F-Antikörper und der thrombozytopenischen Probe untersuchten wir an 40 kokkogenen Ekzematikern mit positivem thrombozytopenischen Test und 40 (negativen) Kontrollindividuen.

Der Anti-F-Antikörper konnte in der ersteren Gruppe nur in 17, in der letzteren in 12 Fällen nachgewiesen werden. Hier-

TAFEL 5

*Verhältnis des Anti-F Antikörpers zum thrombozytopenischen Test.*

| Thrombozyto-<br>penischer<br>Test | Anti-F-Antikörper |             |          |          |          |
|-----------------------------------|-------------------|-------------|----------|----------|----------|
|                                   | Gesamt            | Nachweisbar |          | Fehlend  |          |
|                                   |                   | Erwartet    | Gefunden | Erwartet | Gefunden |
| Positiv .....                     | 40                | 14,5        | 17       | 25,5     | 23       |
| Negativ .....                     | 40                | 14,5        | 12       | 25,5     | 28       |
| Gesamt .....                      | 80                |             | 29       |          | 51       |

$$\chi^2 = 1,354$$

aus folgt, dass für die Positivität des thrombozytopenischen Testes nicht der Anti-F-Antikörper verantwortlich ist. Der aus den Unterschieden der erwarteten und gefundenen Werte berechnete Kennwert  $\chi^2$  beträgt 1,354 (gegen den Grenzwert von 3,841), d.h. die Abweichungen sind nicht als signifikant, sondern als zufällige zu betrachten.

*Verhältnis der Epikutanprobe zu den Ergebnissen der Intrakutanen Hautproben und der serologischen Prüfungen.*

TAFEL 6

*Verhältnis der Epikutanprobe zu den Ergebnissen der intrakutanen Hautproben und serologischen Prüfungen.*

| Epikutan-<br>probe | Ge-<br>samt | Intrakutane<br>Frühtyp-<br>Hautreaktion |              | Thrombozyto-<br>penisches<br>Test |              | Serum-<br>Alfaanti-<br>toxinspiegel |       | Anti-F-<br>Antikörper |              |
|--------------------|-------------|-----------------------------------------|--------------|-----------------------------------|--------------|-------------------------------------|-------|-----------------------|--------------|
|                    |             | Positiv                                 | Ne-<br>gativ | Positiv                           | Ne-<br>gativ | Über<br>1 IE/ml                     | Unter | Nach-<br>weis-<br>bar | Feh-<br>lend |
| Positiv .....      | 12          | 12                                      | 0            | 12                                | 0            | 5                                   | 7     | 6                     | 6            |
| Negativ ...        | 28          | 23                                      | 5            | 28                                | 0            | 15                                  | 13    | 11                    | 17           |
| Gesamt ...         | 40          | 35                                      | 5            | 40                                | 0            | 20                                  | 20    | 17                    | 23           |

Unter Verwendung von SA als Antigen lieferte die Epikutanprobe positive Resultate seltener als die übrigen allergischen Untersuchungen; hierfür spricht, dass von den unter-

suchten 40 Fällen nur bei den 12, positive Epikutanproben liefernden Individuen auch die intrakutane Frühtyp-Hautprobe und der thrombozytopenische Test positiv ausfiel, hingegen neben den 28 negativen Epikutanproben die gleichen allergischen Proben in der entscheidenden Mehrzahl der Fälle positiv waren. Zwischen den serologischen Antikörpern und der Epikutanprobe war kein Zusammenhang nachweisbar.

*Verhältnis der Stärke der während der Immunisierung an der Injektionsstelle auftretenden Hautreaktion zu den intrakutanen Haut- und serologischen Proben.* Auf Grund der Bearbeitung der Angaben unserer 60, mit SA K10 behandelten Kranken und ihrer mathematisch-statistischen Auswertung fanden wir, dass weder aus dem Ergebnis der Frühtyp-Hautprobe, noch aus dem Antitoxinspiegel oder der Nachweisbarkeit des Anti-F-Antikörpers auf die zu erwartende Stärke der Reaktion an der Impfstelle geschlossen werden kann.

#### FOLGERUNGEN

Auf Grund unserer Ergebnisse darf ausgesagt werden, dass im allergischen Zustand nach Staphylokokkus-Infektionen mehrere, voneinander unabhängig erscheinende Antikörper nachweisbar sind. Von diesen sind Alfaantitoxin, Anti-F-Antikörper und 3 weitere präzipitierende Antikörper als Immunantikörper betrachten. Als allergische Antikörper dürfen die für die Positivität der thrombozytopenischen Probe, der intrakutanen Frühtyp-, der intrakutanen Spättyp-Hautreaktion und der Epikutanprobe verantwortlichen Antikörper gelten.

Auf Grund der bis jetzt durchgeführten Untersuchungen nehmen wir an, dass, wenn der Organismus häufig oder andauern durch massiven staphylogenen Antigenreiz betroffen wird oder über ein gutes Antikörperproduktionsfähigkeit verfügt, mit dem Auftreten nicht nur eines, sondern mehrerer Antikörper zu rechnen sei. Da auch die Menge der einzelnen gebildeten Antikörper annehmbarerweise verschieden ist, kann dies die Erklärung der Abweichung zwischen erwarteten und gefundenen Werten liefern. Aucht ist zu beachten, dass wir in

den besprochenen Untersuchungen nur Anatoxine des Stammes Wood 46 verwendet haben, zugleich aber denkbar ist, dass ein Teil unserer Kranken mit solchen Staphylokokken infiziert war, deren Antigenstruktur nicht oder nur teilweise mit der jenes Stammes übereinstimmt, worauf die Diskrepanzen zurückgeführt werden könnten. Zur Klärung dieser Frage beabsichtigen wir in Zukunft auch mit homologen Stämmen Versuche auszuführen.

Der Antigenwert der einzelnen Anatoxinpräparate ist weder hinsichtlich der allergologischen, noch der immunologischen Prüfungen gleich. Bei Hautproben (intrakutane Frühtyp-Reaktion und Epikutanprobe) brachte das Präparat K<sub>5</sub> die meisten positiven Ergebnisse, zugleich wurden die Serum-Alfaantitoxinspiegel am ausgeprägtesten durch Präparat K<sub>10</sub> gesteigert. Dieser Unterschied erscheint auch im Verhältnis zum Gehalt an Bindungseinheiten, indem er mit den Hautproben nicht, mit Alfaantitoxintiter aber zusammenhängt. Den Grund der Abweichungen suchen wir in der verschiedenen Herstellungsart der Präparate. Dazu, dass das Anatoxin die zum Nachweis der allergologischen Proben nötigen Antigenfraktionen in hinreichender Menge enthalte, scheint die 4–5 Tage dauernde statische Züchtung geeigneter als die 6–10 Stunden dauernde Methode mit Belüftung zu sein. Auf Grund unserer Ergebnisse erscheint das Staphylokokkus-Alfatoxin nicht als das adäquate Komplexantigen des staphylogenen Ekzems, dies schliesst jedoch seine Fähigkeit, als haptentartiger Antigenfaktor spezifische Reaktionen auszulösen, nicht aus. Der thrombozytopenische Test, die Intrakutan- und Epikutanprobe können – unter Anwendung geeigneter Methoden – neben der Züchtung im Nachweis eines kokkogenen Ursprungs mancher Ekzeme behilflich sein.

Wir bewerten unsere Angaben in dem Sinne, dass die für die allergischen Reaktionen verantwortlichen Antikörper nicht identisch mit den, durch serologischen Reaktionen in vitro nachweisbaren Antikörpern sind. In dieser Hinsicht stehen unsere Resultate mit den Veröffentlichungen über mit anderen Antigenen gewonnene Angaben im Einklang (6,1,2).

In der Folge erscheint es nötig, die einzelnen Antigene in hohem Reinheitsgrad herzustellen und isoliert zu prüfen. Nach unseren bisherigen Angaben gelangt das präzipitierende F-Antigen aus dem Bakteriumkörper in das Toxoid und lässt sich vom Alfaantitoxin trennen. Letzteres fällt nämlich aus, wenn das native Toxoid bei einem pH-Wert von etwa 4 mit Trichloressigsäure behandelt wird, während das präzipitierende F-Antigen dabei in Lösung bleibt (5). In humanen Seren sind auch Antikörper nachweisbar, die Mäuse gegen Staphylokokkus-Infektion schützen (3, 7, 4). Wir beabsichtigen zu klären, ob diese protektiven Antikörper mit irgendeinem der bisher identifizierten Antikörper, z.B. mit dem Anti-F-Präzipitin identisch sind.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Frühtyp-Hautreaktion, thrombozytopenischem Test, Epikutanprobe, Alfaantitoxinspiegel und Gegenwart des Anti-F-Antikörpers fanden die Verfasser die einzelnen Antikörper nicht miteinander identisch, doch ist augenfällig, dass die Zahl der gefundenen positiven Fälle dann höher als die erwartete ausfiel, bzw. sich solche Fälle dann in grösserer Häufigkeit nachweisen liessen, wenn der Immun- bzw. Allergiezustand hochgradig war. Auf Grund ihrer Ergebnisse halten Verfasser das Staphylokokkus-Alfatoxin nicht für das adäquate Komplexantigen des staphylogenen Ekzems, wodurch jedoch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen wird, dass jenes als haptentartiger Antigenfaktor spezifische Reaktionen auslöst.

#### SCHRIFTTUM

1. *Augustin, R.*: Immunological aspects of diagnosis and treatment in allergy. Proc. Europ. Acad. Allerg. Stenfert Kroese. Leiden. 1, 20, 1961.
2. *Cormane, R. H.*: The clinical significance of the nephelometric examination of serum in drug allergy. Proc. Europ. Acad. Allerg. Stenfert Kroese. Leiden. 1, 28, 1961.
3. *Fisher, M. W.*: Measurement of a staphylococcal antibody in human serum by a mouse protection test. Nature 183, 1962, 1959.

4. *Fisher, S.*: Observations on an antistaphylococcal mouse protective antibody in human sera. *Austr. J. exp. Biol. med. Sci.* 34, 413, 1961.
5. *Jóó, I., Backhausz, R., Korossy, S., Dóbidás, Gy. & Gózonny, M.*: Immunological investigations on staphylococcus toxoids. *Proc. 7th Congr. Int. Biol. Standard. London.* 1961 (1961).
6. *Mathews, K. P. & Spear, H. J.*: A comparative study of the hemagglutinating and skin sensitizing activities of ragweed sensitive human sera. *J. Immunol.* 87, 274, 1961.
7. *North, E.*: The use of specific antitoxin against experimental staphylococcal infection in mice. *Austr. J. exp. Biol. med. Sci.* 37, 341, 1959.

This document is a scanned copy of a printed document. No warranty is given about the accuracy of the copy. Users should refer to the original published version of the material.